Aus dem Gerichtlich-Medizinischen Institut der Universität Basel
Vorsteher Prof. Dr. J. Im Obersteg
Arbeit unter Leitung von Dr. J. Bäumler

ZUM NACHWEIS VON METHAMINODIAZEPOXID (LIBRIUM^{R}) IN URIN UND BLUT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
Valentin Gander
von Saanen

1962

Buchdruckerei Landschäftler AG Liestal
1963

ZUM NACHWEIS VON METHAMINODIAZEPOXID (LIBRIUM^{R}) IN URIN UND BLUT

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0115

Aus dem Gerichtlich-Medizinischen Institut der Universität Basel
Vorsteher Prof. Dr. J. Im Obersteg
Arbeit unter Leitung von Dr. J. Bäumler

ZUM NACHWEIS VON METHAMINODIAZEPOXID (LIBRIUM^{R}) IN URIN UND BLUT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von
Valentin Gander
von Saanen

Buchdruckerei Landschäftler AG Liestal
1963

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. J. Im Obersteg

Tag der Promotion: 29. Juni 1962

Inhaltsübersicht

I. **Einleitung und Problemstellung**

II. **Chemie des Librium**

III. **Methodik des Nachweises:**

A. Extraktion:
a) Ätherextraktion
b) Hydrolyse und Ätherextraktion

B. Dünnschichtchromatographie

C. Spektrophotometrie

IV. **Versuchsergebnisse:**
a) Untersuchte Fälle
b) Diskussion der Ergebnisse

V. **Zusammenfassung**

VI. **Literaturverzeichnis**

I. Einleitung und Problemstellung

Durch die Einführung der Phenothiazinderivate vom Typus des Chlorpromazins (LARGACTIL) im Jahre 1950 ist in der Psychiatrie eine Entwicklung eingeleitet worden, deren Ausmaße noch nicht vorauszusehen sind. Die Zahl der in den Handel gelangenden Psychopharmaka wächst fast wöchentlich und ihre Vielfalt kann auf die Dauer nur noch vom Spezialisten überblickt werden.

Je nach der Wirkungsweise werden die psychotropen Pharmaka in folgende vier Gruppen eingeteilt:

1. Neuroleptica, früher auch Neuroplegica genannt (Phenothiazine, Reserpin),
2. Antidepressiva (Monoaminooxydasehemmer, Phenothiazin-ähnliche Stoffe),
3. Tranquillizers oder Ataractica (Librium, Meprobamat, Atarax),
4. Psychotonica (Coffein, Ritalin, Weckamine).

Eines dieser in neuerer Zeit entwickelten Präparate, das der Gruppe der Tranquillizers nahesteht, ist das von der Firma Hoffmann-La Roche unter dem Handelsnamen LIBRIUM auf den Markt gebrachte Methaminodiazepoxid. Dieses fand, wie viele andere Psychopharmaka nicht nur in der eigentlichen Psychiatrie, sondern auch in zunehmendem Maße in der allgemeinen Medizin, vor allem auf dem Gebiete der Psychosomatik, breiteste Anwendung.

Mit dieser Entwicklung hat sich aber auch die Gefahr eines Mißbrauches des Medikamentes eingestellt. So sind in der uns zur Verfügung stehenden Literatur bereits fünf Suicidversuche mit LIBRIUM publiziert worden:

J. E. GILBERT berichtet über einen Fall, bei dem eine 38jährige Frau insgesamt 1250 mg LIBRIUM und eine unbekannte Menge Alkohol eingenommen hatte.

E. M. SMITH beschreibt den Suicidversuch einer 47jährigen, an paranoider Schizophrenie leidenden Patientin, die 1150 mg LIBRIUM eingenommen hatte. Auch hier wurde zusätzlich Alkohol genossen.

HINES teilt den Suicidversuch eines Mannes mit, der 1600 mg LIBRIUM einnahm und

CLARKE und SIMPSON beschreiben zwei weitere, ebenfalls nicht erfolgreiche Suicidversuche, bei denen je eine Frau 875 mg, bzw. 1630 mg LIBRIUM zu sich nahmen.

In einer Monographie erwähnt schließlich C. G. TAUBER einen Suicidversuch mit LIBRIUM. Einzelheiten darüber sind nicht angegeben.

In allen angeführten Fällen konnten, außer mäßigen ataktischen und dysarthrischen Störungen, keine wesentlichen Befunde von klinischer Relevanz erhoben werden. Dies ist nicht erstaunlich, denn sowohl im Tierexperiment als auch bei Untersuchungen am Menschen wurde die Toxizität des Präparates als sehr gering bezeichnet. Veränderungen des Blutchemismus, der Leber- und Nierenfunktionen sollen nicht beobachtet worden sein; ebenso blieben der Blutdruck und die Herzfrequenz unbeeinflußt.

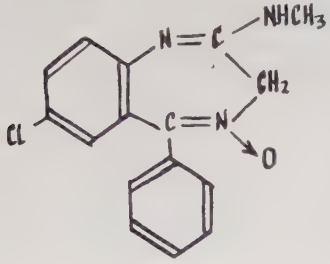
Die Dosierung von LIBRIUM richtet sich nach der individuellen Ansprechbarkeit und dem zu behandelnden Grundleiden. Im allgemeinen werden in der ambulanten Praxis Tagesdosen von 20 bis 80 mg empfohlen, in der Klinik sind solche von 150 bis 400 mg und mehr kurmäßig ohne Schaden ertragen worden.

Immerhin wird die Notwendigkeit des Nachweises von LIBRIUM durch die oben beschriebenen Fälle von Mißbrauch augenscheinlich, ist doch die Kenntnis des eingenommenen Medikamentes für den behandelnden Arzt von wesentlicher, für die Rettung des Patienten oft von entscheidender Bedeutung.

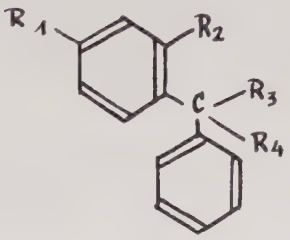
Über den Nachweis von LIBRIUM und dessen Abbauprodukten im menschlichen Organismus konnte uns die Herstellerfirma im Zeitpunkt des Beginns unserer Untersuchungen keine Literaturangaben vermitteln. Wir haben uns deshalb die Aufgabe gestellt, den Nachweis von LIBRIUM in Blut und Urin mittels der Dünnschichtchromatographie zu führen.

II. Chemie des LIBRIUM

LIBRIUM (I), (chemischer Name: 7-Chlor-2-methylamino-5phenyl-3H-1,4-benzodiazepin-4-oxid-hydrochlorid) zeigt eine strukturelle Ähnlichkeit mit den Diphenylmethanderivaten (II).



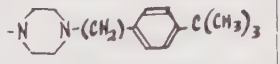
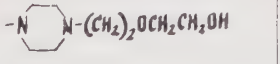
(I)



(II)

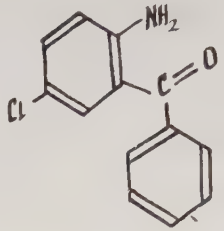
Unter diesen Diphenylmethanderivaten (II) befinden sich eine Reihe bereits eingeführter Arzneimittel mit psychotroper oder antiallergischer Wirkung (Tabelle 1).

Tabelle 1: Diphenylmethanderivate

R_1	R_2	R_3	R_4	Name:	Anwendungsgebiet:
H	H	OH	$-COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_2$	Benactycin (Suavitil)	Tranquillizer
H	H	OH		Pipradol (Meratran)	Antihistaminicum
H	H	H		Cyclizine (Marzine)	Antidepressivum (Reisekrankheit)
Cl	H	H		Hydroxyzine (Atarax)	Tranquillizer
Cl	H	H		Buclizine (Vibazine, Softran)	Antihistaminicum Tranquillizer

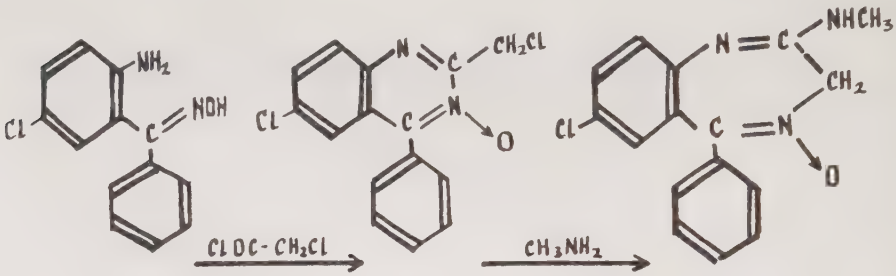
Die Synthese von LIBRIUM (STERNBACH 1961), deren Verständnis für die im folgenden benützte Nachweismöglichkeit von Bedeutung ist, sei kurz wiedergegeben:

Ausgehend vom 2-Amino-5-chlor-benzophenon (III), welches schon von CHATTAWAY (1904) und später von STERNBACH (1935) beschrieben wurde, gelang STERNBACH durch eine interessante Ringumlagerung die Bildung eines neuartigen siebengliedrigen Ringsystems.



(III)

In einer ersten Stufe bildet sich aus dem Oxim (IV) von 2-Amino-5-chlor-benzophenon (III) mit Chlor-acetylchlorid ein Chinazolin-3-oxid (V), das sich bei der Umsetzung mit Methylamin in ein 1,4-Benzodiazepin-4-oxid (I) umlagert.



(IV) (V) (I)

Oxim von III — Chinazolin-3-oxid (6-Ringsystem) — Librium (7-Ringsystem)

Das Hydrochlorid von Methaminodiazepoxid* ist ein weißes kristallines Pulver, das sich in Wasser sehr gut löst. Wässerige oder alkoholische Lösungen sind instabil und färben sich sehr bald gelb, ebenso tritt unter Lichteinwirkung eine Zersetzung auf.

Sein Schmelzpunkt beträgt 230° C, wobei von 170° C eine leichte Braunfärbung auftritt.

Die freie Base ist gut ätherlöslich und läßt sich aus wäßrigen, alkalischen Lösungen mit Äther ausschütteln. Die UV-Absorption besitzt bei 264 mμ ein Maximum, das gegen das kurzwellige Licht hin langsam abnimmt und bei 242 bis 250 mμ ein kleines Plateau aufweist. (Siehe Abbildung Nr. 3, S. 15.)

* Der Firma Hoffmann-La Roche sind wir für die Überlassung von LIBRIUM in Reinsubstanz zu Dank verpflichtet.

III. Methodik des Nachweises

A. Extraktion

a) Ätherextraktion:

Über den Metabolismus und die Ausscheidung von LIBRIUM aus dem menschlichen Körper hatten wir ursprünglich keine genauen Kenntnisse. Deshalb haben wir das Material (Urin und Blut) zunächst nach der bekannten Methode durch Ausschütteln mit Äther in saurem und alkalischem Milieu zu extrahieren versucht.

> Dabei wurde der zu untersuchende Urin mit Schwefelsäure angesäuert und dreimal mit der gleichen Menge Äther ausgeschüttelt. Die basischen Stoffe verbleiben dabei im Wasseranteil, die neutralen und sauren Stoffe lösen sich in der ätherischen Phase. Anschließend wurde der Urin mit Natronlauge alkalisiert und nochmals mit den gleichen Mengen Äther ausgeschüttelt. Die auf diese Weise gewonnenen Ätherextrakte wurden mit Natriumsulfat entwässert und der Äther abdestilliert. Die Rückstände wurden gewogen, in Methanol gelöst und die Lösungen in bestimmten Verdünnungen auf Chromatographieplatten aufgetragen.

Bei der Aufarbeitung des Blutes wurde wie folgt vorgegangen:

> Das Blut wurde mit Seesand und etwas Natriumsulfat in einer Porzellanschale verrieben bis eine homogene und nicht allzu feuchte Masse entstand. Zur Freimachung des basischen Librium wurde eine Spatelspitze Natriumcarbonat hinzugefügt. Das derart vorbehandelte Material wurde mit Aceton während ca. 30 Minuten gekocht und dann das Aceton abdestilliert. Anschließend wurde analog der Urinextraktion mit Äther ausgeschüttelt.

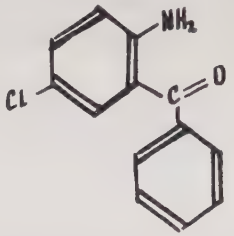
Untersucht wurden mit dieser Methodik insgesamt 14 Urin- und Blutproben von Patienten sowie vergleichende Leerproben. Bei allen diesen Versuchen ist es nicht gelungen, LIBRIUM oder dessen Abbauprodukte nachzuweisen. Außer Hippursäure und Harnstoff konnten keine größeren Mengen anderer Substanzen in den so gewonnenen Ätherextrakten gefunden werden.

Eine Verbindung mit zwei Benzolkernen und weiteren größeren Bausteinen, wie sie im Libriummolekül vorhanden sind, kann vom Organismus nicht vollständig abgebaut werden. Es war daher anzunehmen, daß wasserlösliche Metaboliten entstehen. Am naheliegendsten schien die Bindung der Metaboliten an Glucuronsäure, wie sie zum Beispiel beim Stoffwechsel von gewissen Aminen oder phenolischen Verbindungen zustande kommt.

Der Beweis für diese Annahme wurde erbracht, indem es uns gelang die Glucuronsäurebindung mit dem Ferment ß-Glucuronidase zu spalten. Aus Urinproben, die während 24 Stunden bei 37 °C in einer Pufferlösung vom pH 6,8 mit ß-Glucuronidase behandelt wurden, konnten nach dem Ausschütteln mit Äther die Substanzen gefunden werden.

Dünnschichtchromatographische Versuche ergaben, daß es sich dabei nicht um einen einheitlichen Stoff handelt. Das Hauptausscheidungsprodukt ließ sich im Chromatogramm mit Dragendorff'schem Reagens orangerot anfärben; daneben waren einige weitere, jedoch kleinere Flecken im Chromatogramm sichtbar. Daß es sich dabei um Libriummetaboliten handelt geht aus folgendem Versuch hervor:

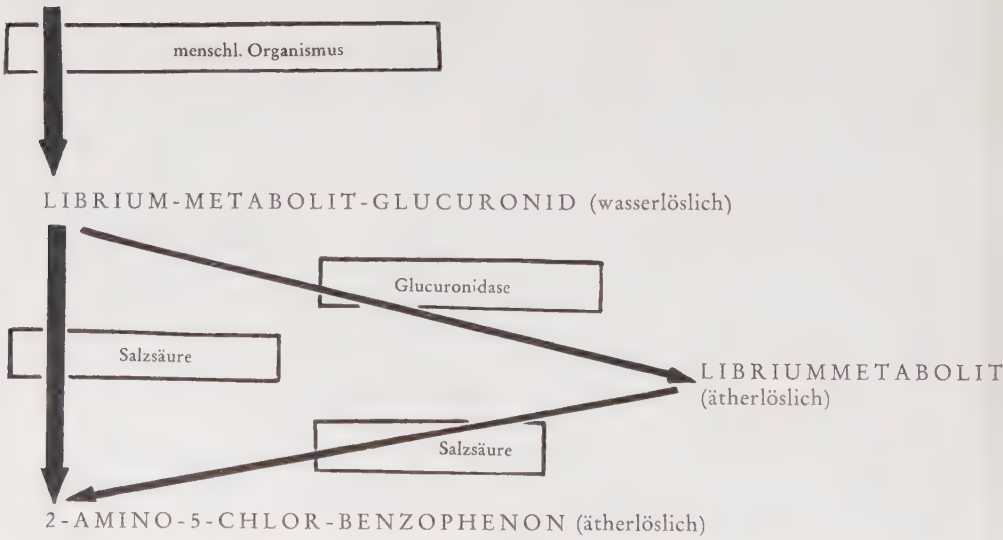
Der aus Urinproben, die mit ß-Glucuronidase behandelt waren erhaltene ätherische Extrakt wurde während zwei Stunden mit Salzsäure erhitzt, mit Natriumhydroxid neutralisiert und erneut ausgeäthert. Nach dem Verdampfen des Äthers ließ sich im Rückstand chromatographisch und spektrophotometrisch das 2-Amino-5-chlor-benzophenon nachweisen.



2-Amino-5-chlor-benzophenon.

Die gleiche Verbindung wird erhalten durch Erhitzen von wäßrigen Libriumlösungen mit Salzsäure. Dabei verfärbt sich die Lösung tief gelb, ähnlich wie dies bei der instabilen wäßrigen Lösung von Librium geschieht. Dieses Hydrolysenprodukt von Librium wurde vor kurzem von BAEUMLER und RIPPSTEIN als 2-Amino-5-chlor-benzophenon identifiziert.

Tabelle 2: Schema des Libriumnachweises:



Da einesteils der chromatographische Nachweis der durch die Fermentspaltung erhaltenen Produkte nicht sehr empfindlich und andernteils die Fermentbehandlung sehr zeitraubend war, haben wir bei unseren weiteren Untersuchungen die Glucuronsäureabspaltung und die Hydrolyse des Libriummoleküls in einem Arbeitsgang durch zweistündiges Erhitzen mit Salzsäure durchgeführt.

b) Hydroloyse und Ätherextraktion:

Das Untersuchungsmaterial, 50 bis 500 ml Urin bzw. das Serum aus 20 g Blut, wird mit 10 bis 30 ml konzentrierter Salzsäure (36%) versetzt und während zwei Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen der dunkel gefärbten Lösung wird mit festem Natriumhydroxid neutralisiert und dreimal mit gleichen Mengen Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wird mit Natriumsulfat entwässert, filtriert und der Äther abdestilliert. Der so gewonnene Extrakt wird gewogen und das in der Lösung enthaltene 2-Amino-5-chlor-benzophenon chromatographisch und spektrophotometrisch nachgewiesen.

B. Dünnschichtchromatographie

Schon im Jahre 1938 hat ISMAILOV und SCHRAIBER auf 2 mm dünnen Aluminiumoxidschichten brauchbare Trennresultate erzielt. Erst 20 Jahre später fand diese Methode, von STAHL technisch verfeinert und standardisiert, unter der Bezeichnung Dünnschichtchromatographie eine große Verbreitung. Die zahlreichen Publikationen in der neusten Literatur beweisen die zunehmende Bedeutung dieses Untersuchungsverfahrens. Gegenüber den anderen chromatographischen Techniken, zum Beispiel der Papierchromatographie, bringt sie folgende Vorteile: die Trennzeit wird um das 20- bis 30fache verkürzt und beträgt nur etwa 30 bis 45 Minuten. Zur Sichtbarmachung der Flecken können die verschiedensten und agressivsten Reagentien verwendet werden, ohne daß die Kieselgelschicht zerstört wird.

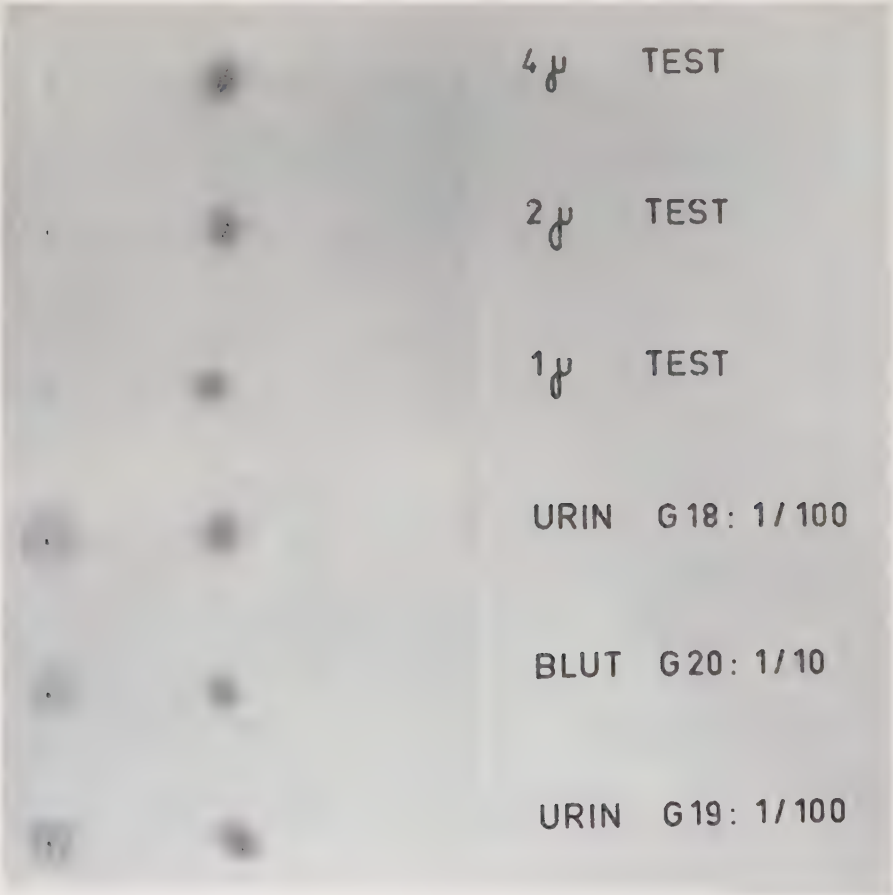
Zur Herstellung der Platten geht man folgendermaßen vor:

28 g käufliches Kieselgel G (Merck) werden mit 54 ml Wasser zu einer dünnflüssigen, homogenen Suspension verrührt und in die Dünnschichtapparatur (Firma Desaga, Heidelberg) gegossen. Diese Kieselgelsuspension wird rasch über die Glasplatten verteilt und reicht für sechs Platten vom Format 20×20 cm. Anschließend werden die beschichteten Platten etwa 30 Minuten bei ca. 110° C getrocknet und dann über Blaugel aufbewahrt. Das Auftragen der zu trennenden Substanzen erfolgt mit Mikropipetten, in der gewünschten Verdünnung, am Startpunkt. Die Entwicklungskammern werden etwa 1,5 cm hoch mit dem Fließmittel gefüllt und vor dem Einbringen der Dünnschichtplatten zur Konditionierung mindestens während einer Stunde stehen gelassen. Sobald das Fließmittel eine Laufstrecke von 10 cm zurückgelegt hat, in unserem Falle nach 30 bis 45 Minuten, wird die Platte herausgenommen und an der Luft getrocknet. Danach wird das Chromatogramm im UV-Licht betrachtet und anschließend, zur Sichtbarmachung der Flecken, mit dem entsprechenden Reagens besprüht.

Bei Verwendung unseres Standardgemisches für basische Substanzen (Methanol, Aceton, Triaethanolamin 1:1:0,03) als Fließmittel, erscheint LIBRIUM beim Besprühen mit dem Reagens nach Dragendorff unter Bildung rotbrauner Flecke bei einem Rf-Wert von 0,85.

Für die dünnschichtchromatographische Identifizierung von 2-Amino-5-chlor-benzophenon benützen wir als Fließmittel reines Benzol. Während unverändertes LIBRIUM und evtl. vorhandene Fremdstoffe am Startpunkt sitzen bleiben, zeigt das schwach gelb gefärbte Hydrolysenprodukt von LIBRIUM einen Rf-Wert von 0,5. Die Sichtbarmachung des 2-Amino-5-chlor-benzophenon erfolgt durch Diazotierung mit Nitritlösung und Kupplung mit alkalischer ß-Naphtollösung. Dabei bildet sich der rote Azofarbstoff (4-Chlor-2-benzoyl-phenyl-1-azo-1')-2'-hydroxy-naphtol. Mit dieser Farbreaktion können auf der Dünnschichtplatte, wie wir an Hand von Verdünnungsreihen festgestellt haben, noch 0,05γ 2-Amino-5-chlor-benzophenon sichtbar gemacht werden.

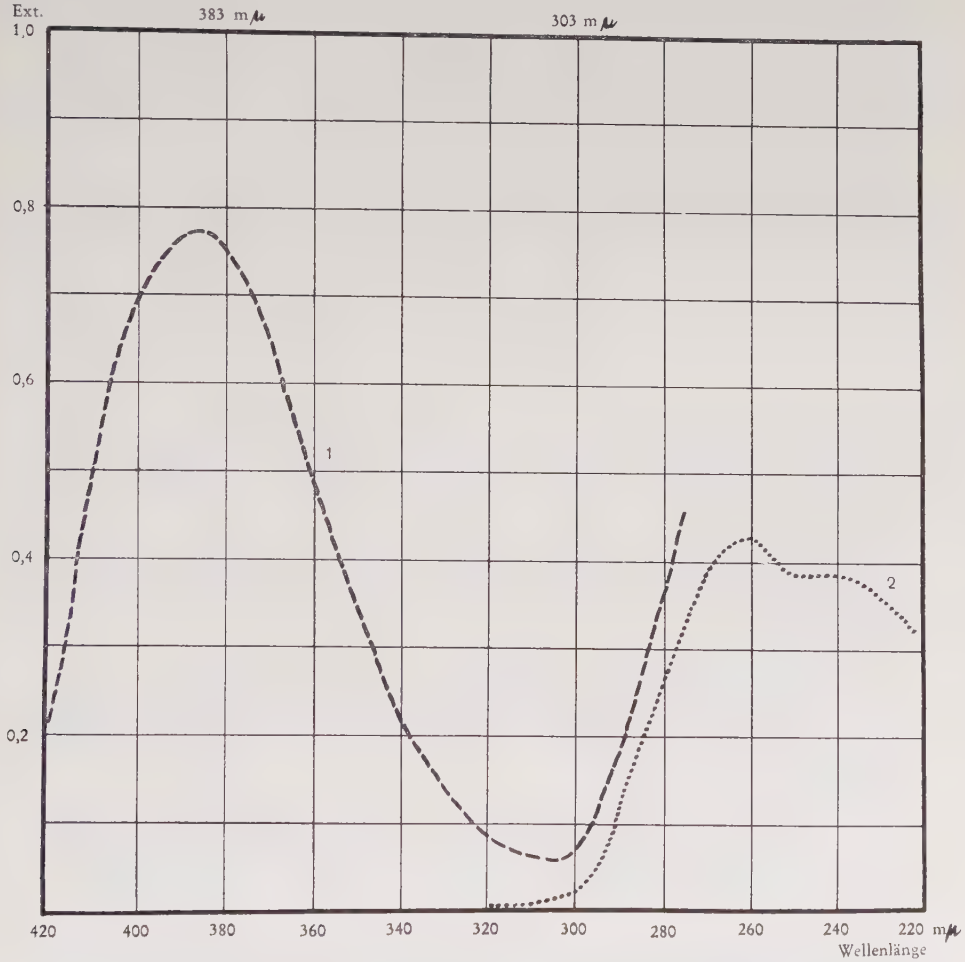
Abb. I: Chromatogramm



C. Spektrophotometrie

Zur Messung der UV-Absorption ist es notwendig die ätherischen Extrakte an einer kleinen Kieselgelsäule weiter zu reinigen. Der Ätherrückstand wird in Benzol aufgenommen und an einer Kieselgelsäule (0,2 bis 0,5 mm Kerngröße) von 8 cm Länge und einem Durchmesser von 0,8 cm chromatographiert. Beim Eluieren der Säule mit Benzol löst sich sofort eine gelbliche Zone, die isoliert wird und zur Spektrophotometrie genügend rein ist. Die UV-Absorption des 2-Amino-5-chlor-benzophenon ergibt bei 383 mμ ein Maximum und bei 303 mμ ein Minimum.

Tabelle 3: UV-Absorptionskurve (aufgenommen im ZEISS RPQ 20 A)



1 2-Amino-5-chlor-benzophenon in Methanol. $E_{max.}$ bei 383 mμ und $E_{min.}$ bei 303 mμ

2 Librium in Methanol.-$E_{max.}$ bei 264 mμ

IV. Versuchsergebnisse

a) Untersuchte Fälle:

Untersuchungen No 1 bis 14 werden nicht einzeln aufgeführt, da die verwendete Methode der direkten Aetherausschüttelung versagt hat (s. S. 11).

No 15, 16 und 17: 41jährige Patientin J. H. Diagnose «Debilität, hysteriforme Reaktionen». War über längere Zeit auf eine Tagesdosis von insgesamt 30 mg Librium p. o. in drei Einzelgaben von je 10 mg eingestellt. Zur Untersuchung verwendeten wir jeweils 200 ml Urin und erhielten 9,6 mg, 11,2 mg bzw. 8 mg Extrakt. Diese wurden in je 1 ml Methanol aufgelöst und die Lösungen in einer Verdünnung von 1/100 auf die Kieselgelplatte aufgetragen. Als Vergleichslösung wurden 5γ 2-Amino-5-chlor-benzophenon verwendet.

No 18: Von derselben Patientin und bei gleichbleibender Dosierung von Librium, wurden 50 ml Urin verarbeitet und nach Ausschütteln mit Äther 10,5 mg Rückstand gewonnen. Dieser wurde in 1 ml Methanol gelöst und davon 1/100 auf die Platte aufgetragen.

No 20: Von der gleichen Patientin wie bei No 15 bis 18 und bei gleicher Libriumdosierung wurden 19,1 g Blut untersucht. Nach dem Verdampfen des Äthers verblieb ein Rückstand von 8,2 mg, den wir wiederum in 1 ml Methanol gelöst und aus der Lösung 1/10 auf die Platte aufgetragen haben.

No 19: 32jährige P. K. Diagnose «Hysteriforme Reaktionen in Konfliktsituation». Die Patientin war auf eine Tagesdosis von 85 mg Librium eingestellt. Wir verarbeiteten 50 ml Urin und erhielten 12 mg Rückstand. Diesen haben wir in 1 ml Methanol aufgelöst und in der Verdünnung von 1/100 auf die Platte pipettiert.

No 21: Von derselben Patientin wie in No 19 gelangten gleichzeitig 18,5 g Blut zur Untersuchung. Nach dessen Verarbeitung verblieb ein Rückstand von 3,2 mg, der in 0,5 ml Methanol gelöst wurde. Davon haben wir 1/10 auf die Chromatographieplatte aufgetragen.

No 22: 62jähriger Patient E. T. Diagnose «chronische Schizophrenie». Erhielt eine einmalige Gabe von 10 mg Librium p. o. Der 12-Stunden-Urin wurde gesammelt und davon 500 ml in üblicher Weise verarbeitet. Es resultierte ein Rückstand von 31 mg der in 1 ml Methanol gelöst und in der Verdünnung 1/100 auf die Platte aufgetragen wurde.

No 23: Vom gleichen Patienten wie bei der Untersuchung No 22 (nach einmaliger Gabe von 10 mg Librium) haben wir den Urin nach 24 Stunden untersucht. Aus 500 ml Urin erhielten wir ein Extrakt von 36 mg. Diesen haben wir in 1 ml Methanol gelöst und 1/100 davon auf die Platte aufgetragen.

No 24: Gleichzeitig mit dem 12-Stunden-Urin von Untersuchungsfall 22 wurden demselben Patienten, 12 Stunden nach der Einnahme von 10 mg Librium, 18,2 g Blut entnommen und untersucht. Der erhaltene Rückstand von 3 mg wurde in 0,5 ml Methanol aufgelöst und in der Konzentration 1/1 auf die Platte aufgetragen. Als Testsubstanz dienten 5γ und 10γ Libriumhydrolysat (2-Amino-5-chlor-benzophenon).

Für die freundliche Unterstützung dieser Arbeit, sei an dieser Stelle Herrn Dr. med. A. Tschudin, Direktor der Psychiatrischen Klinik «Hasenbühl», Liestal, herzlichst gedankt.

No 25: Patientin R. F., 31jährig, mit der Diagnose «Wochenbett-Katatonie». Diese Patientin erhielt einige Wochen lang 60 mg Librium täglich. Aus den zur Untersuchung gelangten 100 ml Urin, verblieb ein Rückstand von 44,1 mg, der in 1ml Methanol in Lösung gebracht und davon 1/50 auf die Platte aufgetragen wurde.

No 26: Zur gleichen Zeit wurden der Patientin von Untersuchungsfall 25 22,6 g Blut entnommen. Nach der Aufarbeitung verblieb ein Rückstand von 14,5 mg der in 0,5 ml Methanol gelöst und von der Lösung 1/2 auf die Platte aufgetragen wurde.

No 27: Patientin F. N., 35jährig, Diagnose «Katatonie». Die Patientin war auf eine Tagesdosis von 60 mg Librium eingestellt. Von 50 ml Urin erhielten wir einen Rückstand von 7,3 mg, der nach Auflösung in Methanol in der Vedünnung von 1/100 aufgetragen wurde.

No 28: 40jährige Patientin L. E. Diagnose «Eheneurose, Flüchtlingssituation»; erhielt 90 mg Librium pro Tag. Von den 50 ml untersuchten Urin verblieb ein Rückstand von 12,4 mg den wir in 1 ml Methanol gelöst und in der Verdünnung 1/100 auf die Chromatographieplatte aufgetragen haben.

No 29: Dem polymorph-süchtigen 44jährigen Patienten L. M. (Alkoholismus, Saridonismus), wurden zur Überbrückung der Entziehungserscheinungen 20 mg Librium im Tag verabreicht. Zur Untersuchung gelangten 25 ml Urin der nach der Aufarbeitung 8,2 mg Rückstand ergab. Diesen lösten wir in 0,5 ml Methanol und trugen von der Lösung 1/10 auf die Kieselgelplatte auf.

b) Diskussion der Ergebnisse

In Tabelle 4 (Seite 18) lassen sich die Empfindlichkeit und die Grenzen der Nachweismethode leicht überblicken. Im besonderen sei darauf hingewiesen, daß auch bei sehr niedriger Dosierung (einmalige Gabe von 10 mg) der Nachweis von eingenommenem Librium im Urin und im Blut gelingt (G 22 bis G 24). Die Tatsache, daß in der zweiten Urinprobe (G 23), die in der Zeit von 12 bis 24 Stunden nach Einnahme des Medikamentes gesammelt wurde, die Menge der Ausscheidungsprodukte größer war als im Urin der ersten 12 Stunden (G 22), deutet auf eine langsame Ausscheidung von Librium aus dem Organismus hin. Bei diesem Versuch konnte das Librium nach 12 Stunden auch im Blut deutlich festgestellt werden (G 24). Allerdings wurde damit die Empfindlichkeitsgrenze des Nachweises erreicht: der rote Flecken im Chromatogramm war, trotz Verwendung des gesamten Extraktes, gerade noch sichtbar. Bei noch kleineren Mengen des Medikamentes wird eine zuverlässige Auswertung der Chromatogramme kaum mehr möglich sein.

Abschließend kann jedoch gesagt werden, daß bei den jetzt geltenden therapeutischen Tagesdosen von 30 bis 90 mg der Nachweis von Librium keine Schwierigkeiten bereiten wird. Bei den üblichen Dosierungen ist somit die beschriebene Methode empfindlich genug und würde sogar eine Verringerung des Untersuchungsmaterials auf einige Kubikzentimeter Urin oder einige Gramm Blut gestatten.

Tabelle 4: Untersuchte Fälle

Nr.	Pat.	Diagnose	Erhaltene Dosis Librium	Untersuchungsmaterial	Dünnschichtchromatographie	
					Aufgetragener Teil des Extraktes	Fleckengröße
G 15	J. H.	Debilität, hysterif. Reaktionen	30 mg p. d.	200 ml Urin	1/100	+++
G 16	J. H.	Debilität, hysterif. Reaktionen	30 mg p. d.	200 ml Urin	1/100	+++
G 17	J. H.	Debilität, hysterif. Reaktionen	30 mg p. d.	200 ml Urin	1/100	+++
G 18	J. H.	Debilität, hysterif. Reaktionen	30 mg p. d.	50 ml Urin	1/100	+++
G 20	J. H.	Debilität, hysterif. Reaktionen	30 mg p. d.	19,1 g Blut	1/10	++
G 19	P. K.	Hysteriforme Reaktionen in Konfliktsituation	85 mg p. d.	50 ml Urin	1/100	+++
G 21	P. K.	Hysteriforme Reaktionen in Konfliktsituation	85 mg p. d.	18,5 g Blut	1/10	++
G 22	T. E.	Chronische Schizophrenie	10 mg p.d.	500 ml Urin (nach 12 Stunden)	1/10 1/100	++ +
G 23	T. E.	Chronische Schizophrenie	10 mg p.d.	500 ml Urin (nach 24 Stunden)	1/10 1/100	+++ ++
G 24	T. E.	Chronische Schizophrenie	10 mg p.d.	18,2 g Blut (nach 12 Stunden)	1/1	+
G 25	R. F.	Akute Katatonie	60 mg p. d.	100 ml Urin	1/50	+++
G 26	R. F.	Akute Katatonie	60 mg p. d.	22,6 g Blut	1/2	++
G 27	N. F.	Akute Katatonie	60 mg p. d.	50 ml Urin	1/100	+++
G 28	L. F.	Akute Katatonie	90 mg p. d.	50 ml Urin	1/100	+++
G 29	L. M.	Polymorphe Süchtigkeit	20 mg p. d.	25 ml Urin	1/10	+++

V. Zusammenfassung

In Anbetracht der in den letzten Jahren stark zunehmenden Bedeutung der Psychopharmaka und der sich daraus ergebenden Gefahr des Mißbrauches, erscheint es notwendig, Methoden zu deren Nachweis nach erfolgter Einnahme zur Hand zu haben.
Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Methaminodiazepoxid (LIBRIUM) und dessen Nachweis in Blut und Urin mittels der Dünnschichtchromatographie.

Versuche mit dem Ferment ß-Glucuronidase ergaben, daß die Librium-metaboliten an Glucuronsäure gebunden, das heißt in wasserlöslicher Form vorliegen.

Da einesteils der chromatographische Nachweis, der durch die Fermentspaltung erhaltenen Verbindungen nicht sehr empfindlich und andernteils die Fermentbehandlung sehr zeitraubend war, haben wir das Untersuchungsmaterial direkt mit Salzsäure erhitzt. Dabei wird nicht nur die Glucuronsäurebindung, sondern auch der Siebnerring des Libriummoleküls auseinandergespalten. Das dabei gebildete 2-Amino-5-chlor-benzophenon läßt sich chromatographisch und spektrophotometrisch sehr gut nachweisen. Im Dünnschichtchromatogramm lassen sich durch Diazotieren und Kupplung mit ß-Naphtol noch 0,05γ sichtbar machen.

Mit der angewendeten Methode ist es in allen untersuchten Fällen gelungen, die Einnahme von Librium in Blut und Urin nachzuweisen. Selbst nach einmaliger Dosierung von nur 10 mg Librium konnten 12 Stunden später in Blut und Urin die Abbauprodukte von Librium festgestellt werden.

Die gleichzeitige Einnahme von anderen Medikamenten (Barbiturate, Phenothiazine, usw.) hat keinen Einfluß auf den Nachweis des 2-Amino-5-chlorbenzophenon; die Auswertung der Chromatogramme und der UV-Absorption wird dadurch nicht gestört.

VI. Literaturverzeichnis

BAEUMLER J., S. RIPPSTEIN: Über den Nachweis von «Methaminodiazepoxid» (Librium®) und seiner Metaboliten. Helv. Chim. Acta 44, 2209 (1961).

CHATTAWAY F. C.: J. Chem. Soc., **85**, 340 (1904).

CLARKE T. P., T. R. SIMPSON, S. P. WISE: Two unsuccessful suicidal attempts with a new Drug, Methaminodiazepoxide (Librium), Texas J. Med., **57**, 24 (1961).

DZIEWONSKI K., L. H. STERNBACH: Bull. int. acad. Polonaise Class. Sci. math. nat. Ser. A 333 (1935), zitiert nach Chem. Abstr. **30**, 1972 (1936).

GILBERT J. E.: Ingestion of a massive Dose of Librium (erscheint in Dakota Med. J.).

HINES L. R.: Methaminodiazepoxide (Librium), a Psychotherapeutic Drug. Curr. Ther. Res., **2**, 227—36 (1960).

SMITH E. M.: Suicidal Attempt by Oral Ingestion of Methaminodiazepoxide (Librium), Clin. Med. **8**, 72—74 (1961).

STAHL E.: Dünnschicht-Chromatographie. Zschr. Analyt. Chem., **181**, 303—312 (1961).

STERNBACH L. H., S. KAISER, E. REEDER: Quinazoline-3-oxide, structure of compounds prevously described in the Literatur as 3,1,4-Benzodiazepines. J. Am. Chem. Soc., **82**, 340 (1960).

STERNBACH L. H.: DAS 1 096 362 (Hoffmann-La Roche & Co.) zitiert nach JUCKER E., Chimia **15**, 267 (1961).

TAUBER C. G.: Librium, ein neues psychotropes Pharmakon. Schw. Med. Wschr., **90**, 1065—1070 (1960).